

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

1. วัสดุและอุปกรณ์

- 1.1 ผลชมพูพันธุ์ทับทิมจันทร์
- 1.2 เครื่องชั่งอิเล็กทรอนิกส์ ทศนิยม 2 ตำแหน่ง รุ่น Precisa 1620 C ของบริษัท Precisa Instruments AG ประเทศสวิสเซอร์แลนด์
- 1.3 เครื่องชั่งอิเล็กทรอนิกส์ ทศนิยม 4 ตำแหน่ง รุ่น I 1800 ของบริษัท Sartorius GMBH Gottingen ประเทศสหพันธ์รัฐเยอรมันนี
- 1.4 เครื่องวัดความเป็นกรดเป็นด่าง (pH meter) รุ่น HI 9021 ของบริษัท Hanna Instruments ประเทศโปรตุเกส
- 1.5 เครื่องวัดปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (hand refractometer) รุ่น N-1E (0-32 องศาบริกซ์) ของบริษัท Atago ประเทศญี่ปุ่น
- 1.6 เครื่องวัดความแน่นเนื้อ (firmness tester) รุ่น KM ของบริษัท Fujiwa ประเทศญี่ปุ่น
- 1.7 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (spectrophotometer) รุ่น 6300 ของบริษัท JENWAY ประเทศในเครือสหราชอาณาจักร
- 1.8 เครื่องวัดค่าการนำไฟฟ้า (conductivity meter) รุ่น HI 8819 N ของบริษัท Hanna ประเทศโปรตุเกส
- 1.9 เครื่องวัดสี (chromameter) รุ่น CR-300 ของบริษัท Minolta ประเทศญี่ปุ่น
- 1.10 หม้อนึ่งอัตโนมัติ (autoclave) รุ่น HL-300 ของบริษัท Hunley ประเทศไต้หวัน
- 1.11 ตู้อบลมร้อน (oven) ของบริษัท Binder ประเทศเยอรมันนี
- 1.12 เครื่องกวนสารละลายด้วยแท่งแม่เหล็กและให้ความร้อน
- 1.13 ที่เจาะ (cork borer) เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.83 เซนติเมตร
- 1.14 ตู้แช่เย็นอุณหภูมิต่ำ
- 1.15 อุปกรณ์และเครื่องแก้วต่างๆ
- 1.16 กระดาษกรอง Whatman No. 1
- 1.17 แผ่น aluminum foil
- 1.18 ฝ้ายขาวบาง

- 1.19 ถาดโฟม
- 1.20 ฟิล์มยึด PVC ความหนา 13 ไมครอน
- 1.21 มีดปอกผลไม้และเขียงพลาสติก
- 1.22 กล้องถ่ายรูปดิจิทัล (digital camera)

2. การเตรียมสารเคลือบผิวที่บริโภคได้

2.1 การเตรียมวิตามินอีความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์

ชั่ง lecithin 0.25 กรัม ใส่ในกระป๋องอะลูมิเนียม (กระป๋องน้ำอัดลมที่ล้างทำความสะอาดแล้ว) ที่มีน้ำ 25 มิลลิลิตร ใส่แท่งแม่เหล็กแล้วนำไปตั้งบนเครื่องกวนสารละลาย จากนั้นเติมวิตามินอีสังเคราะห์ (α -tocopherol) 0.2 มิลลิลิตรลงไป ร่อนสารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน

2.2 การเตรียมวิตามินอีความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ที่มีส่วนผสมของสารเคลือบผิวที่บริโภคได้

ชั่งเจลาติน 10, 20 และ 30 กรัม สำหรับเจลาตินความเข้มข้น 1, 2 และ 3 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ละลายในน้ำ 250 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิประมาณ 50 องศาเซลเซียส เมื่อสารละลายเป็นเนื้อเดียวกันจึงเติมสารละลายวิตามินอีความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิลิตร

ชั่งผงวุ้น 10, 20 และ 30 กรัม สำหรับสารละลายวุ้นความเข้มข้น 1, 2 และ 3 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ละลายในน้ำ 250 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิประมาณ 90 องศาเซลเซียส เมื่อสารละลายเป็นเนื้อเดียวกันจึงเติมสารละลายวิตามินอีความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิลิตร

3. วิธีการวิจัย

ศึกษาชนิดและความเข้มข้นของสารเคลือบผิวที่บริโภคได้และอุณหภูมิต่างๆ ต่อการยึดอายุ การเก็บรักษาของชมพู แบ่งการทดลองออกเป็น 4 การทดลอง ดังนี้

การทดลองที่ 1 ผลของสารเคลือบผิวที่บริโภคได้ต่อคุณภาพและอายุการเก็บรักษาชมพูพันธุ์ทับทิมจันท์ทั้งผล

นำผลชมพูสดพันธุ์ทับทิมจันท์มาล้างน้ำสะอาดแล้วนำไปจุ่มในน้ำเย็นก่อนเคลือบผิวผลด้วยกรรมวิธีต่างๆ ฝั่งให้แห้งก่อนบรรจุในภาควัสดุขนาด 11 x 19 x 1.5 เซนติเมตร จำนวน 5 ผลต่อถาด หุ้มด้วยฟิล์ม PVC ความหนา 13 ไมครอน แล้วนำไปเก็บรักษา ณ อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส กรรมวิธีในการเคลือบผิวมีดังนี้

- | | |
|---------------|---|
| กรรมวิธีที่ 1 | ชุดควบคุม (ไม่เคลือบผิวผล) |
| กรรมวิธีที่ 2 | เคลือบผิวผลด้วยวิตามินอีความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์
ที่มีส่วนผสมของเจลาตินความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ |
| กรรมวิธีที่ 3 | เคลือบผิวผลด้วยวิตามินอีความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์
ที่มีส่วนผสมของเจลาตินความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ |
| กรรมวิธีที่ 4 | เคลือบผิวผลด้วยวิตามินอีความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์
ที่มีส่วนผสมของเจลาตินความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ |
| กรรมวิธีที่ 5 | เคลือบผิวผลด้วยวิตามินอีความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์
ที่มีส่วนผสมของสารละลายวุ้นความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ |
| กรรมวิธีที่ 6 | เคลือบผิวผลด้วยวิตามินอีความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์
ที่มีส่วนผสมของสารละลายวุ้นความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ |
| กรรมวิธีที่ 7 | เคลือบผิวผลด้วยวิตามินอีความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์
ที่มีส่วนผสมของสารละลายวุ้นความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ |

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ completely randomized design (CRD) มี 7 กรรมวิธี 4 ซ้ำ หนึ่งหน่วยการทดลองมี 5 ผล ทำการสุ่มตัวอย่างถาดชมพูออกมาวิเคราะห์และบันทึกผลการทดลองทุกๆ 2 วัน ข้อมูลที่บันทึก ได้แก่ อายุการเก็บรักษา เปอร์เซ็นต์การสูญเสีย น้ำหนักสด เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง การเปลี่ยนแปลงสีผิวผล ความแน่นเนื้อ ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (TSS) ปริมาณกรดทั้งหมดที่ไตเตรทได้ (TA) ปริมาณกรดแอสคอร์บิก ปริมาณแอนโทไซยานิน กิจกรรมของ polyphenol oxidase (PPO) คะแนนการเกิดเนื้อผลสีน้ำตาล คะแนนการเน่าเสีย และคะแนนการยอมรับการบริโภค

การทดลองที่ 2 ผลของสารเคลือบผิวที่บริโภคได้ต่อคุณภาพและอายุการเก็บรักษาชมพูพันธุ์ทับทิมจันทน์พร้อมบริโภค

นำผลชมพูสดพันธุ์ทับทิมจันทน์มาล้างน้ำสะอาดแล้วนำไปจุ่มในน้ำเย็นก่อนผ่าผลให้ได้เป็น 4 ชั้นตามความยาวผล ใช้มีดเฉือนปลายผลออกเล็กน้อย เคลือบชั้นชมพูที่พร้อมบริโภคด้วยกรรมวิธีต่างๆ ฝั่งให้แห้งก่อนบรรจุในถาดโฟมขนาด 11 x 19 x 1.5 เซนติเมตร จำนวน 16 ชั้นต่อถาด หุ้มด้วยฟิล์ม PVC ความหนา 13 ไมครอน แล้วนำไปเก็บรักษา ณ อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส กรรมวิธีในการเคลือบผิวมีดังนี้

- | | |
|---------------|---|
| กรรมวิธีที่ 1 | ชุดควบคุม (ไม่เคลือบชมพูหั่นชั้น) |
| กรรมวิธีที่ 2 | เคลือบชมพูหั่นชั้นด้วยวิตามินอีความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ที่มีส่วนผสมของเจลาตินความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ |
| กรรมวิธีที่ 3 | เคลือบชมพูหั่นชั้นด้วยวิตามินอีความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ที่มีส่วนผสมของเจลาตินความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ |
| กรรมวิธีที่ 4 | เคลือบชมพูหั่นชั้นด้วยวิตามินอีความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ที่มีส่วนผสมของเจลาตินความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ |
| กรรมวิธีที่ 5 | เคลือบชมพูหั่นชั้นด้วยวิตามินอีความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ที่มีส่วนผสมของสารละลายวุ้นความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ |
| กรรมวิธีที่ 6 | เคลือบชมพูหั่นชั้นด้วยวิตามินอีความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ที่มีส่วนผสมของสารละลายวุ้นความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ |
| กรรมวิธีที่ 7 | เคลือบชมพูหั่นชั้นด้วยวิตามินอีความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ที่มีส่วนผสมของสารละลายวุ้นความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ |

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ completely randomized design (CRD) มี 7 กรรมวิธี 4 ซ้ำ หนึ่งหน่วยการทดลองมี 4 ผล ทำการสุ่มตัวอย่างถาดชมพูออกมาวิเคราะห์และบันทึกผลการทดลองทุกๆ 2 วัน ข้อมูลที่บันทึก ได้แก่ อายุการเก็บรักษา เปอร์เซ็นต์การสูญเสีย น้ำหนักสด เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง การเปลี่ยนแปลงสีผิวผล ความแน่นเนื้อ ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (TSS) ปริมาณกรดทั้งหมดที่ไตเตรทได้ (TA) ปริมาณกรดแอสคอร์บิก ปริมาณแอนโทไซยานิน กิจกรรมของ polyphenol oxidase (PPO) คะแนนการเกิดเนื้อผลสีน้ำตาล คะแนนการเน่าเสียเนื่องจากโรค และคะแนนการยอมรับการบริโภค

การทดลองที่ 3 ผลของอุณหภูมิต่อคุณภาพและอายุการเก็บรักษาผลชมพูพันธุ์ทับทิม จันท

นำผลชมพูสดพันธุ์ทับทิมจันทมาล้างน้ำสะอาดแล้วนำไปจุ่มในน้ำเย็นก่อนเคลือบผิวผลด้วยกรรมวิธีที่ดีที่สุดจากการทดลองที่ 1 ผึ่งให้แห้งก่อนบรรจุในถาดโฟมขนาด 11 x 19 x 1.5 เซนติเมตร จำนวน 5 ผลต่อถาด หุ้มด้วยฟิล์ม PVC ความหนา 13 ไมครอน แล้วนำไปเก็บรักษา ณ อุณหภูมิต่างๆ กรรมวิธีในการเก็บรักษามีดังนี้

- กรรมวิธีที่ 1 ชุดควบคุม (เคลือบผิวผลชมพูด้วยกรรมวิธีที่ดีที่สุดจากการทดลองที่ 1 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง)
- กรรมวิธีที่ 2 เคลือบผิวผลชมพูด้วยกรรมวิธีที่ดีที่สุดจากการทดลองที่ 1 เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 7 องศาเซลเซียส
- กรรมวิธีที่ 3 เคลือบผิวผลชมพูด้วยกรรมวิธีที่ดีที่สุดจากการทดลองที่ 1 เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ completely randomized design (CRD) มี 3 กรรมวิธี 4 ซ้ำ หนึ่งหน่วยการทดลองมี 5 ผล ทำการสุ่มตัวอย่างถาดชมพูออกมาวิเคราะห์และบันทึกผลการทดลองทุกๆ 2 วัน ข้อมูลที่บันทึก ได้แก่ อายุการเก็บรักษา เปอร์เซ็นต์การสูญเสีย น้ำหนักสด เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง การเปลี่ยนแปลงสีผิวผล ความแน่นเนื้อ ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (TSS) ปริมาณกรดทั้งหมดที่ไตเตรทได้ (TA) ปริมาณกรดแอสคอร์บิก ปริมาณแอนโทไซยานิน กิจกรรมของ polyphenol oxidase (PPO) กิจกรรมของ peroxidase (POD) เปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของสารอิเล็กโทรไลต์ คะแนนการเกิดเนื้อผลสีน้ำตาล คะแนนการเน่าเสีย และคะแนนการยอมรับการบริโภค

การทดลองที่ 4 ผลของอุณหภูมิต่อคุณภาพและอายุการเก็บรักษาชมพูพันธุ์ทับทิมจันท พร้อมบริโภค

นำผลชมพูสดพันธุ์ทับทิมจันทมาล้างน้ำสะอาดแล้วนำไปจุ่มในน้ำเย็นก่อนผ่าผลให้ได้เป็น 4 ชั้นตามความยาวผล ใช้มีดเฉือนปลายผลออกเล็กน้อย เคลือบชั้นชมพูที่พร้อมบริโภคด้วยกรรมวิธีที่ดีที่สุดจากการทดลองที่ 2 ผึ่งให้แห้งก่อนบรรจุในถาดโฟมขนาด 11 x 19 x 1.5 เซนติเมตร จำนวน 16 ชั้นต่อถาด หุ้มด้วยฟิล์ม PVC ความหนา 13 ไมครอน แล้วนำไปเก็บรักษา ณ อุณหภูมิต่างๆ กรรมวิธีในการเก็บรักษามีดังนี้

- กรรมวิธีที่ 1 ชุดควบคุม (เคลือบชมพูหั่นชั้นด้วยกรรมวิธีที่ดีที่สุดจากการทดลองที่ 2 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง)

- กรรมวิธีที่ 2 เคลือบชมพูหั่นขึ้นด้วยกรรมวิธีที่ดีที่สุดจากการทดลองที่ 2
 เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 7 องศาเซลเซียส
- กรรมวิธีที่ 3 เคลือบชมพูหั่นขึ้นด้วยกรรมวิธีที่ดีที่สุดจากการทดลองที่ 2
 เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ completely randomized design (CRD) มี 3 กรรมวิธี 4 ซ้ำ หนึ่งหน่วยการทดลองมี 4 ผล ทำการสุ่มตัวอย่างกรดชมพูออกมาวิเคราะห์และบันทึกผลการทดลองทุกๆ 2 วัน ข้อมูลที่บันทึก ได้แก่ อายุการเก็บรักษา เปอร์เซ็นต์การสูญเสีย น้ำหนักสด เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง การเปลี่ยนแปลงสีผิวผล ความแน่นเนื้อ ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (TSS) ปริมาณกรดทั้งหมดที่ไตเตรทได้ (TA) ปริมาณกรดแอสคอร์บิก ปริมาณแอนโทไซยานิน กิจกรรมของ polyphenol oxidase (PPO) กิจกรรมของ peroxidase (POD) เปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของสารอิเล็กโทรไลต์ คะแนนการเกิดเนื้อผลสีน้ำตาล คะแนนการเน่าเสีย และคะแนนการยอมรับการบริโภค

4. บันทึกผลการทดลอง

ทำการสุ่มตัวอย่างกรดชมพูออกมาวิเคราะห์และบันทึกผลการทดลองทุกๆ 2 วัน ข้อมูลที่บันทึก ได้แก่

4.1 อายุการเก็บรักษา

บันทึกจำนวนวันของอายุการบริโภคได้ โดยการสิ้นสุดอายุเก็บรักษานั้นจะพิจารณาจากลักษณะผิดปกติที่เกิดขึ้นทางด้านคุณภาพที่สังเกตได้ และการยอมรับในการบริโภค ถ้ามีคะแนนการเกิดเนื้อผลสีน้ำตาลมากกว่าหรือเท่ากับ 2 คะแนน คะแนนการเน่าเสียมากกว่าหรือเท่ากับ 3 คะแนน คะแนนการยอมรับการบริโภคน้อยกว่าหรือเท่ากับ 2 คะแนน หรือมีคะแนนอย่างใดอย่างหนึ่งถึงเกณฑ์ที่กำหนดไว้นี้ ให้ถือว่าสิ้นสุดอายุการเก็บรักษา

4.2 การสูญเสียน้ำหนักสด

การสูญเสียน้ำหนักสด คิดในรูปเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักสด โดยชั่งน้ำหนักเริ่มต้นของชมพู และชั่งน้ำหนักทุกๆ 2 วัน จนหมดอายุการเก็บรักษา แล้วนำมาคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักสดดังนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักสด} = \frac{\text{น้ำหนักเริ่มต้น} - \text{น้ำหนักสุดท้าย}}{\text{น้ำหนักเริ่มต้น}} \times 100$$

4.3 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง

นำตัวอย่างที่ชั่งน้ำหนักสดแล้ว ใส่ถุงกระดาษ นำไปอบที่ตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำมาชั่งน้ำหนักอีกครั้งหนึ่ง แล้วนำมาคำนวณเป็น เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้งดังนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง} = \frac{\text{น้ำหนักหลังอบ} \times 100}{\text{น้ำหนักก่อนอบ}}$$

4.4 การเปลี่ยนแปลงสีผิวผล

นำตัวอย่างมาวัดสี ทำการวัดครั้งละ 3 จุด คือ บริเวณข้าวผล กลางผล และท้ายผล โดยใช้เครื่องวัดสีอัตโนมัติ (chroma meter) ระบบ CIE 1976 ($L^*a^*b^*$) ค่าที่วัดได้จะอยู่ในรูปของ L^* , a^* และ b^* โดยที่ค่า L^* เป็นค่า the lightness factor (value) ค่า a^* และ b^* เป็นค่า the chromaticity coordinates (hue และ chroma) (ภาพที่ 6)

ค่า L^* เป็นค่าที่แสดงความมืดและความสว่างของสี มีค่าตั้งแต่ 0-100 ถ้าค่า L^* มีค่าเข้าใกล้ 0 แสดงว่าวัตถุมืดมีความสว่างน้อย และหากมีค่าเข้าใกล้ 100 แสดงว่าวัตถุมืดมีความสว่างมาก

ค่า a^* เป็นค่าที่แสดงสีเขียวและสีแดง ถ้าค่า a^* มีค่าเป็นลบ แสดงว่าวัตถุมืดสีเขียว และหากมีค่าเป็นบวก แสดงว่าวัตถุมืดสีแดง

ค่า b^* เป็นค่าที่แสดงสีน้ำเงินและสีเหลือง ถ้าค่า b^* มีค่าเป็นลบ แสดงว่าวัตถุมืดสีน้ำเงิน และหากมีค่าเป็นบวก แสดงว่าวัตถุมืดสีเหลือง

ทั้งค่า a^* และ b^* หากมีค่าเป็น 0 แสดงว่าวัตถุมืดสีเทา

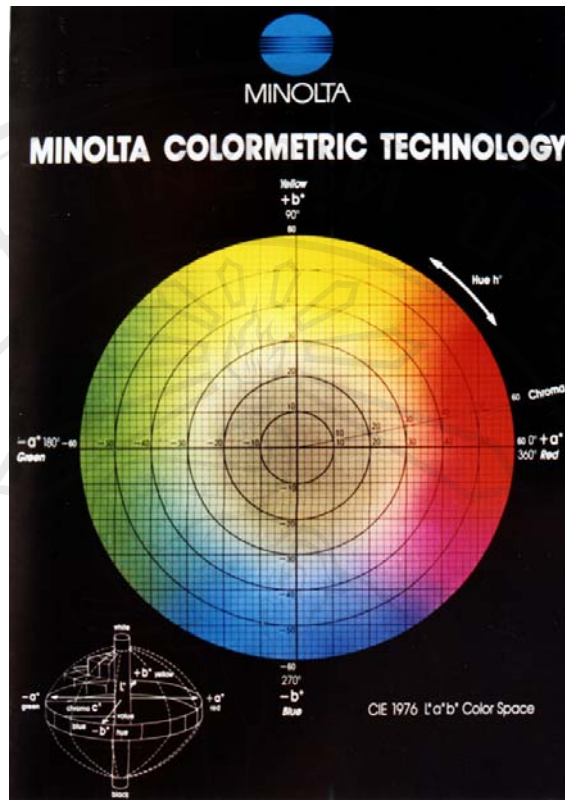
จากค่าของ L^* , a^* และ b^* นำมาคำนวณเป็นค่าของโครมา (chroma) และฮิว (hue) ได้จากสมการ

$$\text{Chroma (C}^*) = [a^{*2} + b^{*2}]^{1/2}$$

$$\text{Hue angle (h}^*) = \tan^{-1}(b^*/a^*)$$

ค่า C^* ถ้ามีค่าเข้าใกล้ศูนย์ แสดงว่าวัตถุมืดสีซีดจาง (เทา) และหากมีค่าสูงเข้าใกล้ 60 แสดงว่าวัตถุมืดสีเข้ม

ค่า hue เป็นค่าที่แสดงช่วงสีของวัตถุ ถ้าค่า hue มีค่าเข้าใกล้ 0 องศา แสดงว่าวัตถุจะอยู่ในกลุ่มสีแดง ถ้ามีค่าเข้าใกล้ 90 องศา แสดงว่าวัตถุอยู่ในกลุ่มสีเหลือง และหากมีค่าเข้าใกล้ 180 องศา แสดงว่าวัตถุอยู่ในกลุ่มสีเขียว



ภาพที่ 6 โครงสร้างของสี 3 มิติใน CIE 1976 $L^*a^*b^*$ Color Space

4.5 ความแน่นเนื้อ (Firmness)

ความแน่นเนื้อของชมพูทำการวัดครั้งละ 3 จุด คือ บริเวณขั้วผล กลางผล และท้ายผล โดยใช้เครื่องวัดความแน่นเนื้อ (firmness tester) กดลงไปบนเนื้อ นำค่าที่วัดได้มาหาค่าเฉลี่ย มีหน่วยเป็น กิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร

4.6 ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (Total Soluble Solids; TSS)

นำน้ำคั้นจากชมพูมาหยดลงปริซึมของเครื่อง hand refractometer แล้วอ่านค่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้เป็นองศาบริกซ์ โดยใช้น้ำกลั่นปรับค่าเป็นศูนย์

4.7 ปริมาณกรดทั้งหมดที่ไตเตรทได้ (Total Titratable Acidity; TA) (อัญชูลี, 2539)

4.7.1 การเตรียมสารเคมี

- สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล เตรียมโดยชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 4 กรัม ละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิลิตร
- สารละลายฟีนอล์ฟทาลีนความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ เตรียมโดยชั่งฟีนอล์ฟทาลีน 1 กรัม ละลายในเอทานอล 60 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 100 มิลลิลิตร

4.7.2 การวิเคราะห์ นำน้ำคั้นจากชมพูปริมาณ 5 มิลลิลิตร หยดสารละลายฟีนอล์ฟทาลีนความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ลงไป 2 หยด เพื่อเป็นอินดิเคเตอร์ แล้วนำไปไตเตรทกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล โดยมีจุดยุติเป็นสีชมพูอ่อนอย่างถาวร บันทึกปริมาณสารละลายค่าที่ใช้ไปแล้วนำมาคำนวณเป็นค่าเปอร์เซ็นต์กรดทั้งหมดที่ไตเตรทได้ดังนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์กรดทั้งหมดที่ไตเตรท} = \frac{(a \times b)}{c} \times 100$$

- โดยที่ a = ปริมาตรของ 0.1 N NaOH ที่ใช้ไตเตรท (มิลลิลิตร)
 b = Normality ของ NaOH
 c = ปริมาณน้ำคั้นของตัวอย่างที่ใช้ (มิลลิลิตร)

4.8 ปริมาณกรดแอสคอร์บิก (Ascorbic Acid) หรือวิตามินซี (สมพร, 2545; AOAC, 2000)

4.8.1 การเตรียมสารเคมี

- สารละลายกรดเมตาฟอสฟอริก-อะซิติก (HPO₃-HOAC) เตรียมโดยชั่งกรดเมตาฟอสฟอริก (HPO₃) 15 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 200 มิลลิลิตร ที่มีกรดอะซิติก (acetic acid) ปริมาตร 40 มิลลิลิตรละลายอยู่ก่อนแล้ว จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 500 มิลลิลิตร สารละลายนี้เก็บไว้ในตู้เย็นได้ 7-10 วัน
- สารละลายอินโดฟินอล เตรียมโดยชั่ง 2,6-dichlorophenolindophenol 50 มิลลิกรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 50 มิลลิลิตร ที่มีโซเดียมไบคาร์บอเนต (NaHCO₃) 42 มิลลิกรัมละลายอยู่ก่อนแล้ว จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 200 มิลลิลิตร สารละลายนี้เก็บไว้ในขวดสีชาในตู้เย็นได้ 2-3 สัปดาห์

- สารละลายวิตามินซีมาตรฐาน เตรียมโดยชั่งกรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid) 50 มิลลิกรัม ละลายในกรดเมตาฟอสฟอริก-อะซิติกแล้วปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร สารละลายวิตามินซีนี้ต้องเตรียมทันทีก่อนใช้ สารละลายวิตามินซีที่เตรียมได้จะมีความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อ 1 มิลลิลิตร

4.8.2 การวิเคราะห์ นำน้ำคั้นจากชมพูปริมาตร 2 มิลลิลิตร มาเติมสารละลายกรดเมตาฟอสฟอริก-อะซิติก ปริมาตร 5 มิลลิลิตร แล้วนำไปไตเตรทกับสารละลายอินโดฟีนอล (dye solution) โดยมีจุดยุติเป็นสีชมพูอย่างถาวร บันทึกปริมาณสารละลายกรดที่ใช้ไปแล้วนำมาคำนวณค่าวิตามินซีที่อยู่ในน้ำผลไม้ เป็นมิลลิกรัมต่อ 100 กรัม น้ำผลไม้ดังนี้

$$\text{มิลลิกรัมวิตามินซี/100 กรัม น้ำผลไม้} = (A - B)(F / E)(V / Y) \times 100$$

โดยที่ A = ปริมาณของสารละลายอินโดฟีนอลที่ใช้ไตเตรทกับตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

B = ปริมาณของสารละลายอินโดฟีนอลที่ใช้ไตเตรทกับสารละลายวิตามินซีมาตรฐาน (มิลลิลิตร)

F = mg. Equivalent ascorbic acid/ 1 ml dye solution

E = ปริมาณของสารละลายวิตามินซีมาตรฐานที่ใช้ (มิลลิลิตร)

V = ปริมาณตัวอย่างที่ใช้ในการไตเตรท (มิลลิลิตร)

Y = ปริมาณสารละลายทั้งหมดที่ใช้ในการไตเตรท (มิลลิลิตร)

4.9 ปริมาณแอนโทไซยานิน (Total Anthocyanin Content) (นิสากร, 2548; Ranganna, 1977)

4.9.1 การเตรียมสารเคมี

- กรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 1.5 นอร์มอล เตรียมโดยใช้กรดไฮโดรคลอริก (HCl) ปริมาตร 62.63 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรเป็น 500 มิลลิลิตร

- เอทานอลไฮโดรคลอริก (เอทานอล : กรดไฮโดรคลอริก) เตรียมโดยนำเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์และกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 1.5 นอร์มอล ผสมกันในอัตราส่วน 85 : 15 แล้วเก็บไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิต่ำ (10 องศาเซลเซียส)

4.9.2 การวิเคราะห์ นำผิวผลชมพูหนัก 1 กรัมมาหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ ใสลงในสารละลายเอทานอลไฮโดรคลอริกปริมาตร 25 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันสักครู่ ปิดฝาด้วย aluminum foil แล้วนำไปเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำออกมา

กรองผ่านกระดาษกรอง Whatman No. 1 แล้วนำสารละลายที่ได้ทั้งหมดมาปรับปริมาตรด้วยสารละลายเอทานอลิกไฮโดรคลอริก ให้มีปริมาตรทั้งหมด 25 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 535 นาโนเมตร โดยใช้สารละลายเอทานอลิกไฮโดรคลอริกเป็นตัวปรับศูนย์ (blank) บันทึกค่าที่ได้แล้วนำมาคำนวณหาปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดดังนี้

$$\text{Total absorbance} = \frac{\text{Absorbance at 535 nm} \times V \times 100}{W}$$

$$\text{Total anthocyanin content (mg/100 g fresh weight)} = \frac{\text{Total absorbance}}{98.2}$$

โดยที่ V = ปริมาตรของสารละลายที่นำมาหาปริมาณแอนโทไซยานิน (มิลลิลิตร)

W = น้ำหนักของผิวผลชมพูที่นำมาหาปริมาณแอนโทไซยานิน (กรัม)

4.10 กิจกรรมของเอนไซม์ Polyphenol Oxidase (PPO) (Selvaraj and Kumer, 1989)

4.10.1 การเตรียมสารเคมี

- สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ มีค่าพีเอช 6.8 เตรียมโดยชั่ง Na_2HPO_3 1.9879 กรัม และ $\text{Na}_2\text{H}_2\text{PO}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 5.616 กรัม ละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิลิตร นำไปวัดค่าพีเอชด้วย pH meter แล้วปรับค่าพีเอชให้เท่ากับ 6.8 ด้วยสารละลายเกลือความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ หรือสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์

- สารละลายซิเตรตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ มีค่าพีเอช 6.8 เตรียมโดยชั่ง $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_6 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ และกรดซิตริก 0.42 กรัม ละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิลิตร นำไปวัดค่าพีเอชด้วย pH meter แล้วปรับค่าพีเอชให้เท่ากับ 6.8 ด้วยสารละลายเกลือความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ หรือสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์

- สารละลายไพโรแกลลอล (pyrogallol) ความเข้มข้น 1.25 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) เตรียมโดยชั่งไพโรแกลลอล 1.25 กรัม ละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

4.10.2 การเตรียมตัวอย่าง นำส่วนที่เป็นเนื้อสีขาวบริเวณเนื้อผลด้านในของชมพู 0.5 กรัม ใส่ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ ที่มีค่าพีเอช 6.8 ปริมาตร

10 มิลลิลิตร ปิดฝาด้วย aluminum foil แล้วนำไปเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นทำให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยการบดผ่านผ้ากรอง 4 ชั้น นำสารละลายส่วนที่ใส (crude enzyme) มาใช้วัดกิจกรรมของเอนไซม์

4.10.3 การวิเคราะห์ ทำการผสมสารละลายซีเตรทบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ ที่มีค่าพีเอช 6.8 ปริมาตร 3.4 มิลลิลิตร สารละลายไพโรแกลลอลความเข้มข้น 1.25 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร และ crude enzyme ปริมาตร 1 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร โดยใช้สารละลายซีเตรทบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ ที่มีค่าพีเอช 6.8 ปริมาตร 3.4 มิลลิลิตร ที่ผสมกับสารละลายไพโรแกลลอล ความเข้มข้น 1.25 เปอร์เซ็นต์ เป็นตัวปรับศูนย์ (blank) บันทึกค่าที่ได้แล้วนำมาคำนวณหากิจกรรมของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดสดังนี้

กำหนดให้กิจกรรมของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส 1 หน่วยเท่ากับปริมาณของเอนไซม์ที่ทำให้ค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร เพิ่มขึ้น 0.001 หน่วย ในเวลา 1 นาที ที่ค่าพีเอชเท่ากับ 6.8 จะได้ (Flurkey and Jen, 1978)

$$\text{กิจกรรมของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส (หน่วย/นาที)} = \frac{\text{Absorbance at 450 nm}}{0.001}$$

4.11 กิจกรรมของเอนไซม์ Peroxidase (POD) (Eva *et al*, 2000)

4.11.1 การเตรียมสารเคมี

- สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ มีค่าพีเอช 6.8 เตรียมโดยชั่ง Na_2HPO_4 1.9879 กรัม และ $\text{Na}_2\text{H}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 5.616 กรัม ละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิลิตร นำไปวัดค่าพีเอชด้วย pH meter แล้วปรับค่าพีเอชให้เท่ากับ 6.8 ด้วยสารละลายเกลือความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ หรือสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์

- สารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตรต่อปริมาตร) เตรียมโดยใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ปริมาตร 29 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นปริมาตร 21 มิลลิลิตร

- สารละลาย guaiacol ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ เตรียมโดยใช้ guaiacol ปริมาตร 0.1214 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นลงไปปรับเป็นปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

4.11.2 การเตรียมตัวอย่าง นำส่วนที่เป็นเนื้อสีขาวบริเวณเนื้อผลด้านในของชมพู 0.5 กรัม ใส่ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ ที่มีค่าพีเอช 6.8 ปริมาตร

10 มิลลิลิตร ปิดฝาด้วย aluminum foil แล้วนำไปเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นทำให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยการบดผ่านผ้ากรอง 4 ชั้น นำสารละลายส่วนที่ใส (crude enzyme) มาใช้วัดกิจกรรมของเอนไซม์

4.11.3 การวิเคราะห์ ทำการผสมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ ที่มีค่าพีเอช 6.8 ปริมาตร 2.4 มิลลิลิตร สารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร สารละลาย guaiacol ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร และ crude enzyme ปริมาตร 0.3 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 485 นาโนเมตร โดยใช้สารผสมระหว่างสารละลาย ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ ที่มีค่าพีเอช 6.8 ปริมาตร 2.4 มิลลิลิตร สารละลาย ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร และสารละลาย guaiacol ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร เป็นตัวปรับศูนย์ (blank) บันทึกค่าที่ได้แล้วนำมาคำนวณหากิจกรรมของเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสดังนี้

กำหนดให้กิจกรรมของเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส 1 หน่วยเท่ากับปริมาณของ เอนไซม์ที่ทำให้ค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 485 นาโนเมตร เพิ่มขึ้น 0.001 หน่วย ในเวลา 1 นาที ที่ค่าพีเอชเท่ากับ 6.8 จะได้ (Flurkey and Jen, 1978)

$$\text{กิจกรรมของเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส (หน่วย/นาที)} = \frac{\text{Absorbance at 485 nm}}{0.001}$$

4.12 เฟอร์เร้นต์การรั่วไหลของสารอิเล็กโทรไลต์ (Electrolyte Leakage) (เสาวคนธ์, 2544; Furmanski and Buescher, 1979)

4.12.1 การเตรียมสารเคมี

- สารละลายแมนนิทอลความเข้มข้น 0.4 โมลาร์ เตรียมโดยชั่งแมนนิทอล 72.86 กรัม ละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิลิตร

4.12.2 การวิเคราะห์ ทำการเจาะเนื้อชมพูด้วยเครื่องเจาะ (cork borer) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 0.83 เซนติเมตร นำไปชั่งน้ำหนักให้ได้เท่ากับ 1 กรัม แล้วนำไปแช่ใน สารละลายแมนนิทอล ความเข้มข้น 0.4 โมลาร์ ปริมาตร 25 มิลลิลิตร เป็นเวลา 3 ชั่วโมง โดยตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง แล้วจึงนำสารละลายมาวัดค่าการนำไฟฟ้า (electrical conductivity) ด้วยเครื่อง conductivity meter บันทึกค่าที่อ่านได้ จากนั้นนำสารละลายเดิมไปหนึ่งหม้อหนึ่งอัดไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที เมื่ออุณหภูมิลดลงเท่ากับอุณหภูมิห้อง นำมาวัดค่าการนำ

ไฟฟ้าอีกครั้ง บันทึกค่าที่ได้แล้วนำมาคำนวณค่าเป็นเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของสารอิเล็กโทรไลต์ ดังนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของสารอิเล็กโทรไลต์} = (a/b) \times 100$$

โดยที่ a = ค่าการนำไฟฟ้าก่อนการนึ่ง (μS /ตารางเซนติเมตร)

b = ค่าการนำไฟฟ้าภายหลังจากนึ่ง (μS /ตารางเซนติเมตร)

4.13 การเกิดเนื้อผลสีน้ำตาล (Browning) (ภาพที่ 7)

การเกิดเนื้อผลสีน้ำตาลใช้วิธีการประเมินโดยการให้คะแนนดังนี้

- 0 = เนื้อผลปกติ
- 1 = เนื้อผลมีสีน้ำตาลน้อยกว่า 5 เปอร์เซ็นต์
- 2 = เนื้อผลมีสีน้ำตาล 5–25 เปอร์เซ็นต์
- 3 = เนื้อผลมีสีน้ำตาล 26–50 เปอร์เซ็นต์
- 4 = เนื้อผลมีสีน้ำตาลมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์



0 1 2 3 4

ภาพที่ 7 ระดับคะแนนการเกิดเนื้อผลสีน้ำตาล

4.14 การเน่าเสีย (ภาพที่ 8)

การเน่าเสียใช้วิธีการประเมินโดยการให้คะแนนดังนี้

- 0 = ผลไม่มีการเน่าเสีย
- 1 = ผลเน่าเสียน้อยกว่า 5 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ผิวผล
- 2 = ผลเน่าเสีย 5–25 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ผิวผล
- 3 = ผลเน่าเสีย 26–50 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ผิวผล
- 4 = ผลเน่าเสียมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ผิวผล



ภาพที่ 8 ระดับคะแนนการนำเสี้ยว

4.15 การยอมรับการบริโภค

การยอมรับการบริโภคเป็นการประเมินด้านคุณภาพโดยใช้ประสาทสัมผัส โดยดูที่สีผิว ความกรอบ ความหวาน และรสชาติจากการชิม ซึ่งใช้ผู้ชิม 5 คนตลอดการทดลองและให้คะแนนดังนี้

- 1 = ไม่ชอบมากที่สุด
- 2 = ไม่ชอบ
- 3 = เฉยๆ
- 4 = ชอบ
- 5 = ชอบมากที่สุด

5. สถานที่ใช้ในการดำเนินการวิจัยและรวบรวมข้อมูล

- 5.1 ห้องปฏิบัติการสรีรวิทยา ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
- 5.2 ห้องปฏิบัติการกลาง คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
- 5.3 ห้องปฏิบัติการ สถานวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

6. ระยะเวลาที่ใช้ในการดำเนินการวิจัย

เดือนมกราคม พ.ศ. 2549 ถึง เดือนมีนาคม 2550